Agilent 7890A GC と Low Thermal Mass (LTM: 低熱質量) システムを用いた USP 467 残留溶媒の高速分析

アプリケーション

薬学

著者

Roger L Firor
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

概要

LTM システムを取り付けた Agilent 7890A GC システムを使用して、USP 467 (2008-09 リビジョン) に従ったデュアルカラム残留溶媒分析を行いました。ボラタイルインタフェースに接続した G1888 オートヘッドスペースサンプラをサンプル導入に使用しました。キャピラリ・フロー・テクノロジー (CFT) 2 ウェイスプリッタを使用して、サンプルを 5 インチの 7 M x 0.25 mm x 1.4 µm Agilent J&W DB-624 カラムと 5 インチの 7 M x 0.25 mm x 0.25 µm Agilent J&W HP-INNOWax カラムに均等にスプリットしました。各カラムモジュールは、リテンションギャップでそれぞれ FID に接続しました。クラス 1、クラス 2A、およびクラス 2B 溶媒の水溶液を分析しました。感度、直線性、および分離能は、USP 467 の要件を満たしました。クラス 1、クラス 2A、および 2B 溶媒すべての分析の合計サイクルタイムが 10 分に短縮されました。

Agilent Technologies

はじめに

原薬 (API) または最終製品の製造プロセスから、医薬品に残留溶媒が残る場合があります。残留溶媒のレベルは、安全性、結晶形態に対する影響、溶解度、バイオアベイラビリティ、安定性などのいくつかの理由でモニタおよびコントロールされます。すべての原薬、添加材、および製品は、USP 467 に含まれています。

LTM (低熱質量) クロマトグラフィシステムを静的ヘッドスペースサンプリングと組み合わせて、改訂された USP 467 General Chapter 2008 に従って医薬品中の残留溶媒を分析します。[1] この Chapter は、International Conference for Harmonization (ICH) Q3C によって設定されたガイドラインに従っています。[2] 残留溶媒は、考えられる毒性に基づいて 3 つのクラスに分類されます。クラス 1 溶媒は、最も毒性が高いと見なされ、製造において避ける必要があります。これらの溶媒は、環境リスクも引き起こす可能性があります。クラス 2 溶媒 (2A、2B、および 2C) は、限定的な使用であれば毒性は低くなります。クラス 2C 溶媒は沸点が高く、その一部は非ヘッドスペースメソッドによる分析を必要とします。クラス 3 は最も毒性が低く、実際に溶媒として使用する必要があります。ヘッドスペース GC はクラス 1 およびクラス 2 溶媒の測定に使用されますが、ほとんどのクラス 3 溶媒は、乾燥減量などの非特異的メソッドで分析されます。各クラス 2 溶媒には、"1 日に許容される摂取限度値" (PDE) 限界があります。特定の溶媒試験が PDE 限界を下回った場合、それ以上の試験は不要です (1 日 10 g 未満の服用量)。薬物製品のすべての成分に添加されている溶媒の合計を参照する General Chapter のオプション 2 は、1 日 10 g を超える服用量に使用されます。

この実験では、カラムサイズと GC オーブンプログラムを除き、メソッドのガイドラインに従います。カラムサイズとプログラム速度を最適化して、分析時間と全体的なサイクルタイムを大幅に短縮しました。ここで説明するような代替メソッドを使用できますが、バリデーションとオリジナルの USP 認証基準と比較が必要な場合があります。FDA は、新しい簡略化新薬申請 (ANDA) に対し、ジェネリック薬品の承認前に残留溶媒の管理を証明するために必要なデータを提供するよう要求しています。

USP 467 では、クラス 1 およびクラス 2 の残留溶媒に対して次の 3 つの手順が指定されています。

1. 手順 A: 同定と検出限界試験
2. 手順 B: 確認試験
3. 手順 C: 定量試験

手順 A では G43 液相 (この実験では Agilent J&W DB-624 カラム) を使用し、手順 B では G16 液相 (この作業では Agilent J&W HP-INNOWax カラム) を使用します。一般に、これらの一方の液相で分離しない溶媒でも、他方の液相では分離します。

実験

システム性能を示すために、標準サンプルを水溶液で作成しました。不溶性物質には、DMSO、DMF、またはその他の適切な非水溶媒を使用する必要があります。両方の溶媒システムに使用したメソッドは非常によく似ています。

使用したデュアルカラムシステムのダイアグラムを図 1 に示します。デュアルチャネル分析を同時に実行するために、設定によってヘッドスペースからのサンプルガスが J&W DB-624 カラムと J&W HP-INNOWax カラムに均等にスプリットされます。以前の実験においては、従来のオーブン加熱と、二口フェラルをスプリット/スプリットレス注入口に取り付けデュアルカラムでの残留溶媒分析を行いました。[3] LTM システムの構成とパラメータ設定を表 1 に示します。

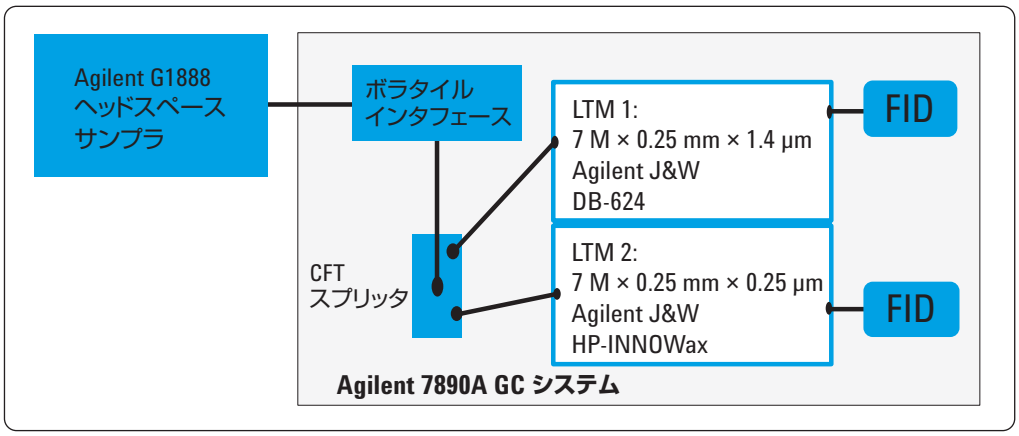

図 1. デュアル LTM カラム構成での CFT スプリッタの使用を示すシステムダイアグラム

表 1. 残留溶媒システムのパラメータ

標準試料

クラス 1:	P/N 5190-1566、USP 混合物質 RS と同等
クラス 2A:	P/N 5190-0491、USP 混合物質 A RS と同等
クラス 2B:	P/N 5190-0492、USP 混合物質 B RS と同等

ソフトウェア

ChemStation:	B.04.02
ヘッドスペース:	G2923AA、A.01.06
LTM:	G6586AA

7890A コンフィグレーションおよびメソッドパラメータ

注入口:	ボラタイルインタフェース、120 °C
圧力プログラム:	12 psig (4 分) から 22 psig (2 分)に 2.0psi/minで昇圧
スプリット比:	14:1、He キャリア
検出器:	デュアル FID
CFT:	2 ウェイスプリッタ、G3181B
7890A オーブン:	220 °C 一定
LTM モジュール 1:	7 M × 0.25 mm × 1.4 µm J&W DB-624
LTM モジュール 2:	7 M × 0.25 mm × 0.25 µm J&W HP-INNOWax
CFT スプリッタおよび FID へのモジュール接続:	0.5 M × 0.25 mm 不活性リテンションギャップ
LTM モジュールプログラム:	表 3 を参照

G1888A ヘッドスペースパラメータ

オーブン:	80 °C
ループ:	90 °C
トランスファライン:	110 °C
サイクルタイム:	LTM プログラムに依存
バイアル平衡化時間:	60 分
加圧時間:	0.15 分
ループ充填時間:	0.15 分
ループ平衡化:	0 分
注入:	0.50分
バイアル:	10 mL、高攪拌
バイアル加圧:	7890A Aux チャンネルで 16.0 psig に設定

クラス 1、クラス 2A、およびクラス 2B 溶媒の標準溶液は、表 2 に示す USP 467 手順に従って純水で前処理しました。これらの原液は、適切にシールされたメスフラスコに室温で 1 ～ 2 ヵ月保管できます。2 グラムの硫酸ナトリウムを各ヘッドスペースバイアルに添加して、ヘッドスペース抽出を効率化しました。

表 2. 標準前処理

クラス 1 溶媒

1. 1.0 mL 原液バイアルに 9 mL の DMSO を加えて 100 mL に希釈
2. 手順 1 からの 1.0 mL を 100 mL に水で希釈
3. 手順 2 からの 10 mL を 100 mL に水で希釈
4. 手順 3 からの 1.0 mL と 5 mL の水を 10 mL HS バイアルに計量

Class 2A 溶媒

1. 1.0 mL 原液バイアルを 100 mL に希釈
2. 手順 1 からの 1.0 mL と 5 mL の水を 10 mL HS バイアルに計量

Class 2B 溶媒

1. 1.0 mL 原液バイアルを 100 mL に希釈
2. 手順 1 からの 1.0 mL と 5 mL の水を 10 mL HS バイアルに計量

直線性を示すために、USP 限界値の約 10 倍低い濃度から 6 倍高い濃度までの範囲でクラス 2A 溶媒を作成しました。結果を図 2 に示します。たとえば、USP 手順 A に従うと、1,4 ジオキサンの限界濃度 (前処理したヘッドスペースバイアル中) は 3.17 µg/mL です。直線性に使用した濃度 (µg/mL) は、水中で 0.190、0.317、1.90、3.17、および 19.0 です。

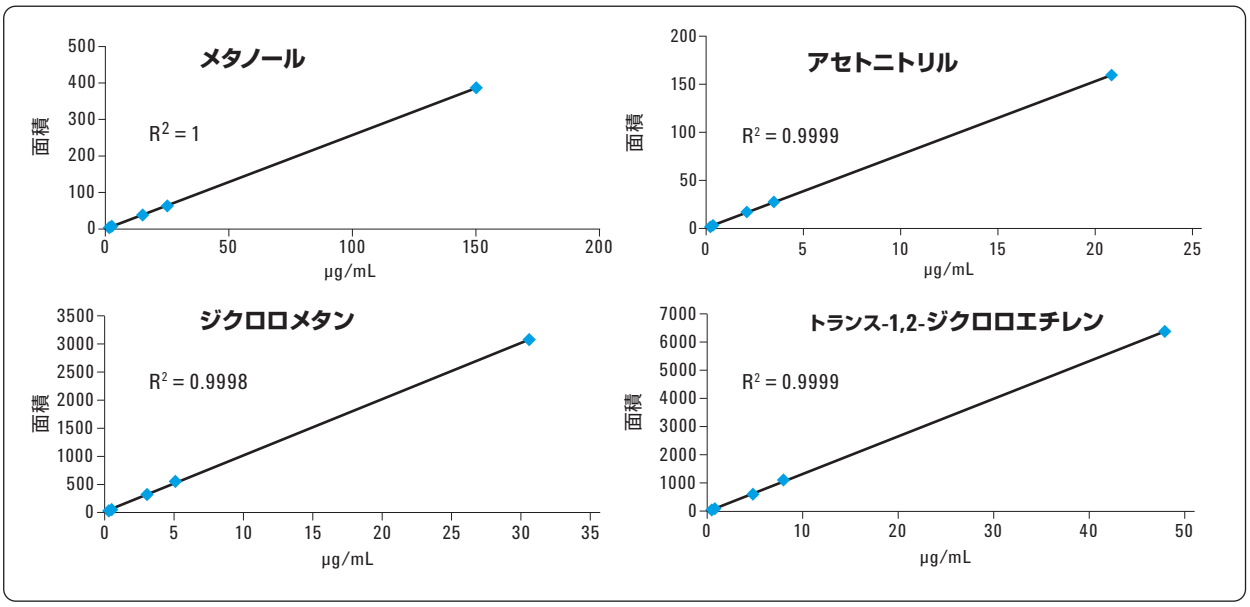

図 2. 限界値の約 10 倍低い値から 6 倍高い値までのクラス 2A 溶媒の検量線。(続く)

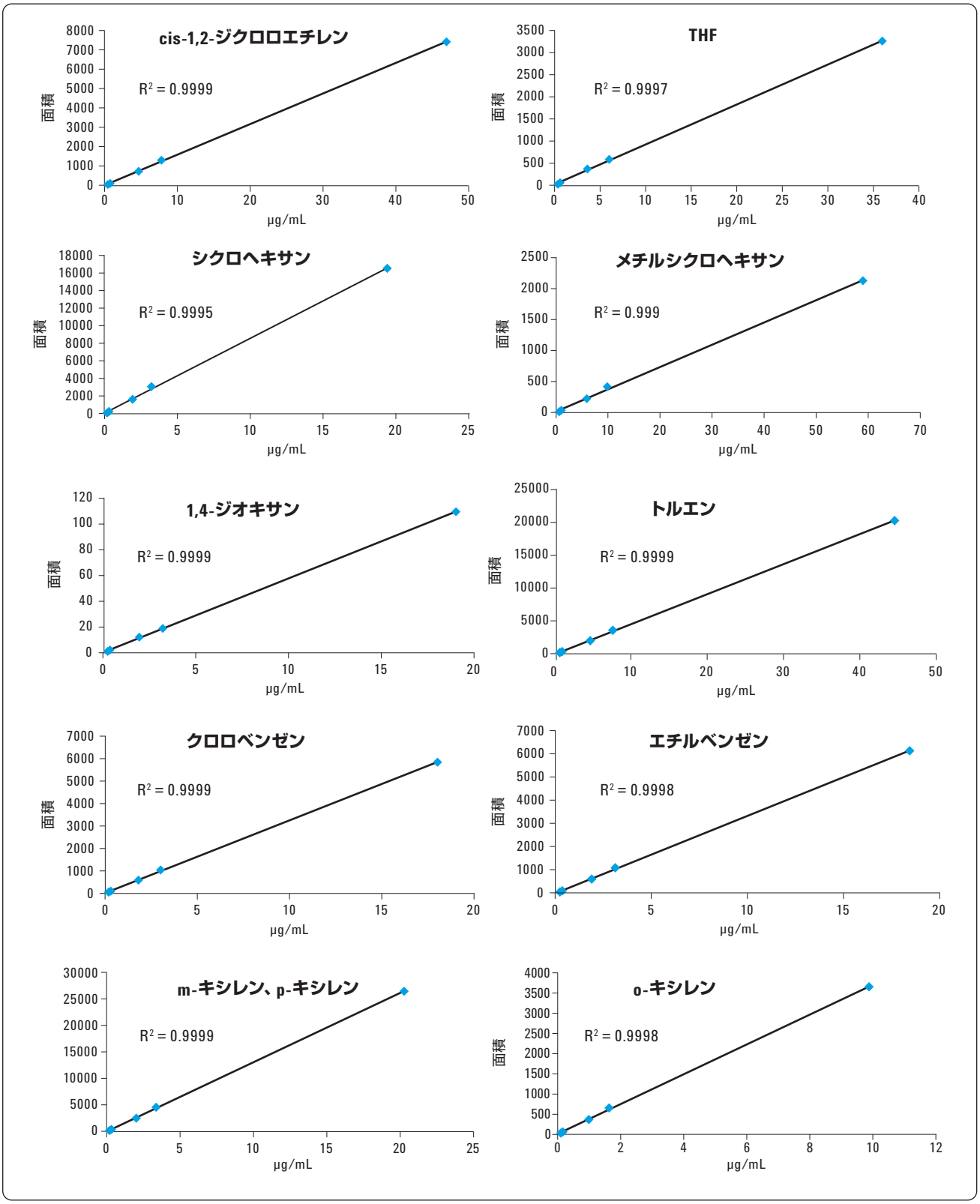

図 2. 限界値の約 10 倍低い値から 6 倍高い値までのクラス 2A 溶媒の検量線

考察

残留溶媒分析に必要な温度プログラムを行ったガスクロマトグラフィでは、オーブン冷却時間がサイクルタイム全体に大きく影響します。LTM カラムモジュールは、非常に低熱質量で、冷却ファンがカラムアセンブリのすぐ下にあるため、通常のオーブンに比べて非常に高速に冷却します。LTM カラムは、はるかに速い昇温プログラムにも対応できるため、サイクルタイムがさらに短くなります。最大実用プログラム速度は、カラムサイズ、相比、キャリアガス、必要な分離などの多くのファクタに依存します。従来の通常の GC メソッドを LTM メソッドに変換する場合は、Agilent メソッド変換ソフトウェアを使用して開始条件を計算できます。標準の 30 M カラムから 7 M LTM モジュールに変換する例を図 3 に示します。60 °C/min ～ 120 °C/min の範囲の LTM 昇温プログラム速度は、特定の溶媒の分離能を満たすことが可能です。残留溶媒の分析に対する LTM テクノロジ以前の実験では、20 m × 0.18 mm、1.0 µm J&W DB-624 カラムを採用しました。[5]

さまざまなカラムサイズとプログラム速度の比較を表 3 に示します。通常の GC オーブンメソッドと LTM メソッドが含まれています。表には、通常の GC 構成と LTM 構成での同じカラム (7 M) サイズの比較があります。これにより全体的なサイクルタイムを正しく比較できます。このアプリケーションに必要な範囲 (35 °C～ 240 °C) で 7890A 120V および 220V GC システムに使用できる最大のオーブンプログラム速度は、それぞれ 30 °C/min と 45 °C/min です。220V 7890A GC と比較した場合でも、LTM はサイクルタイムを 50% 短縮できます。この実験全体を通じて、両方の LTM カラムは LTM ChemStation アドオンソフトウェア制御し、同一のオーブンプログラムで操作しました。ただし、それぞれの LTM カラムは、最適化を行いそれぞれ異なったプログラムを使用

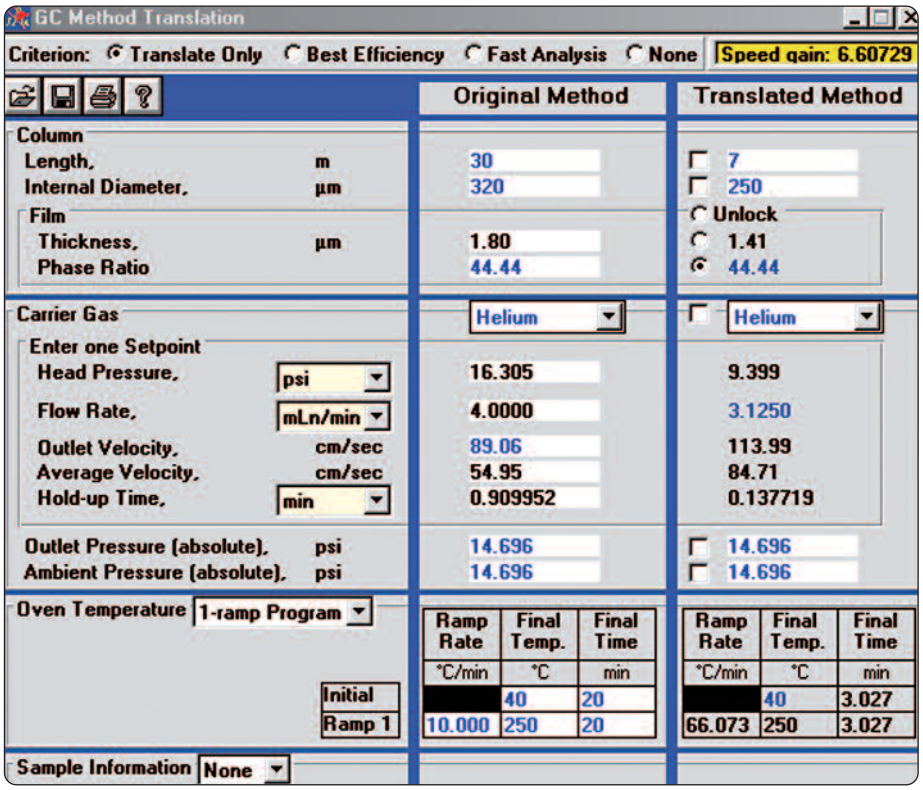

図 3. 標準の 30 M カラムから Agilent J&W DB-624 7 M LTM カラムへのメソッド変換。このツールをダウンロードするには、www.agilent.com/chem/methodtranslator をご覧ください

表 3. 種々のカラム構成とオーブンタイプ構成のサイクルタイム

加熱	カラム	プログラム	冷却	サイクルタイム
7890A (120V)	30 M × 0.53 mm × 3.0 µm Agilent J&W DB-624	10 °C/min で 40 °C (20 分) ～ 240 °C (20 分)	3 分間のオーブン平衡化で 6 分 50 秒	67 分
7890A (120)	7 M × 0.25 mm × 1.4 µm Agilent J&W DB-624	30 °C/min で 35 °C (5 分) ～ 240 °C (5 分) *	3 分間のオーブン平衡化で 8 分 25 秒	25 分 15 秒
7890A (220)	7 M × 0.25 mm × 1.4 µm Agilent J&W DB-624	30 °C/min で 35 °C (5 分) ～ 240 °C (5 分) **	3 分間のオーブン平衡化で 8 分 25 秒	22 分 30 秒
LTM (Fast)	7 M × 0.25 mm × 1.4 µm Agilent J&W DB-624	30 °C/min で 35 °C (5 分) ～ 240 °C (5 分)	1 分 45 秒 (1 モジュールシステム)	15 分 10 秒
LTM (Faster)	7 M × 0.25 mm × 1.4 µm Agilent J&W DB-624	100 °C/min で 35 °C (5 分) ～ 240 °C (3 分)	1 分 45 秒 (1 モジュールシステム)	11 分 45 秒
LTM (Fastest)	7 M × 0.25 mm × 1.4 µm Agilent J&W DB-624	120 °C/min で 35 °C (4 分) ～ 240 °C (3 分)	1 分 45 秒 (1 モジュールシステム)	15 分 30 秒

できます。唯一の制約は、両方のカラムプログラムが同時に開始することです。終了時間は異なっていてもかまいません。Agilent J&W DB-624 モジュールおよび J&W HP-INNOWax モジュールでのクラス 1 溶媒の LTM クロマトグラムをそれぞれ図 4A と 4B に示します。図 5 に示すように、2 つのクラス 2A 溶媒 (J&W DB-624 カラム上のアセトニトリルおよび塩化メチレン) の分離能はメソッド要件を満たします。すべてのクラス 1 溶媒の S/N 比は、指定された検出限界濃度で 3 を上回ります。

J&W DB-624 と J&W HP-INNOWax 両方のクラス 2A および 2B 溶媒のクロマトグラムを図 6 と 7 に示します。限界濃度と組み合わせたすべてのクラス 1、2A、および 2B 溶媒を図 8 に示します。ピーク同定と限界濃度を分析したサンプル濃度を表 4 に示します。120 °C/min で分析を行うとサイクルタイムが 10.5 分にまで短縮されます。

USP 467 に従ったこの実験におけるヘッドスペースバイアルの平衡化時間は 60 分です。ただし、同等の結果は 30 分間の加熱時間でも得られることに注意してください [3]。ヘッドスペースバイアルベント (ループ充填) プロセスの電子背圧制御を使用すると、感度と再現性における追加の利点が得られます。これについては、アプリケーションノート 5989-6079JAJP で詳細に説明しています [6]。

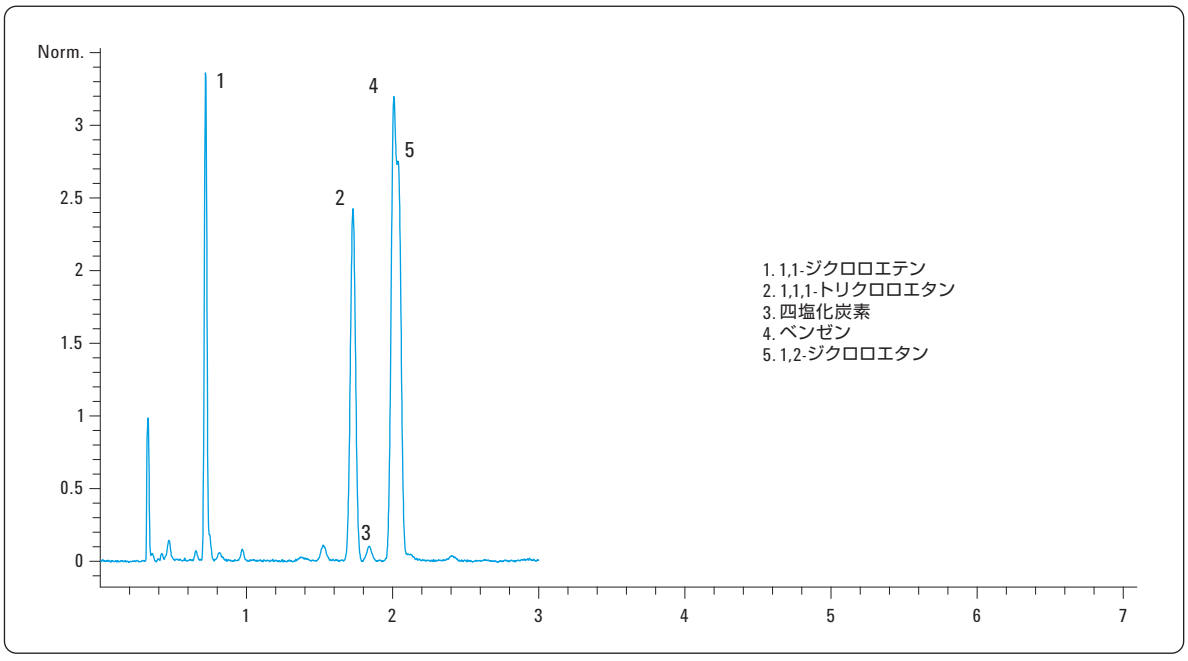

図 4A. 60 °C/min のプログラム速度の Agilent J&W DB-624 カラムにおける限界濃度でのクラス 1 残留溶媒

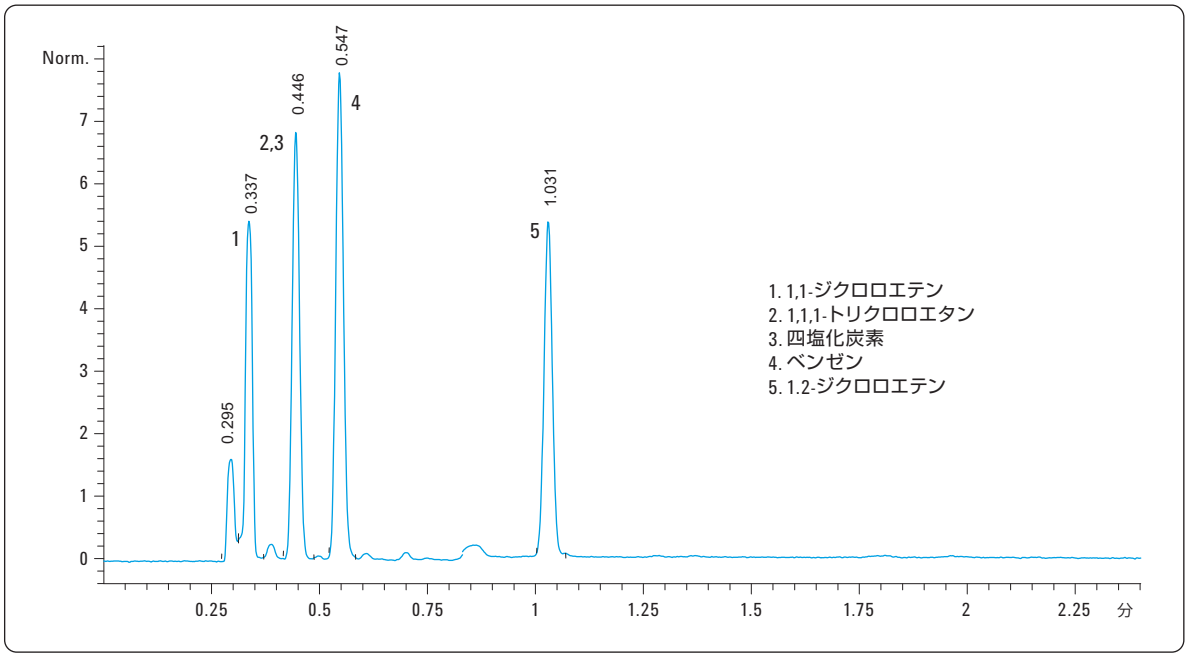

図 4B. 60 °C/min の Agilent J&W HP-INNOWax カラムにおける限界濃度でのクラス 1 溶媒

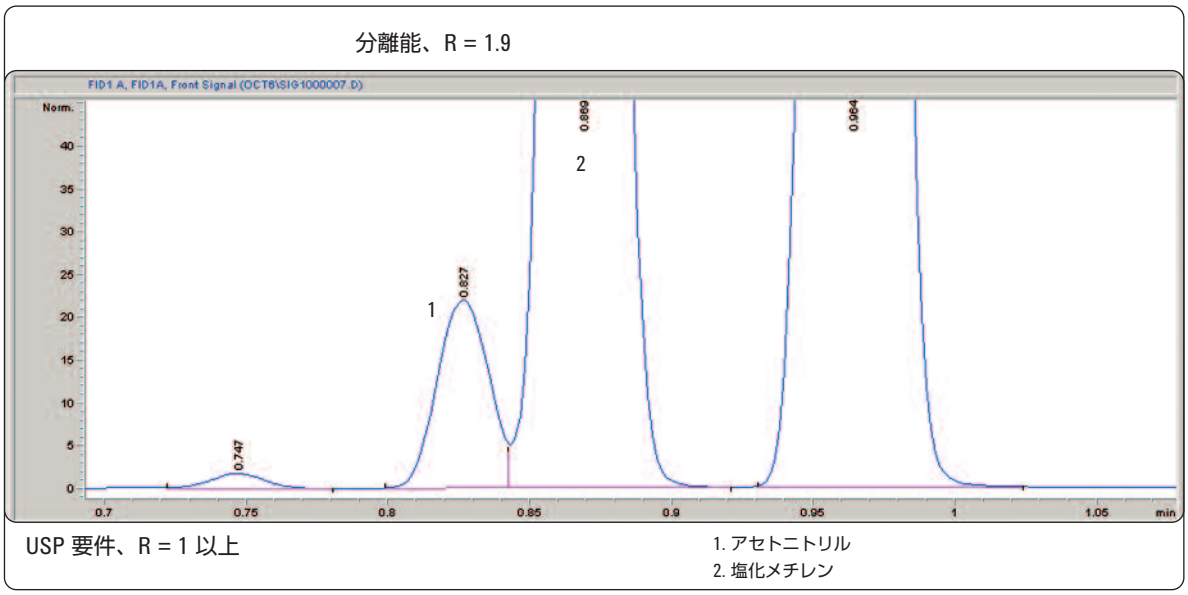

図 5. アセトニトリル/塩化メチレンの分離能

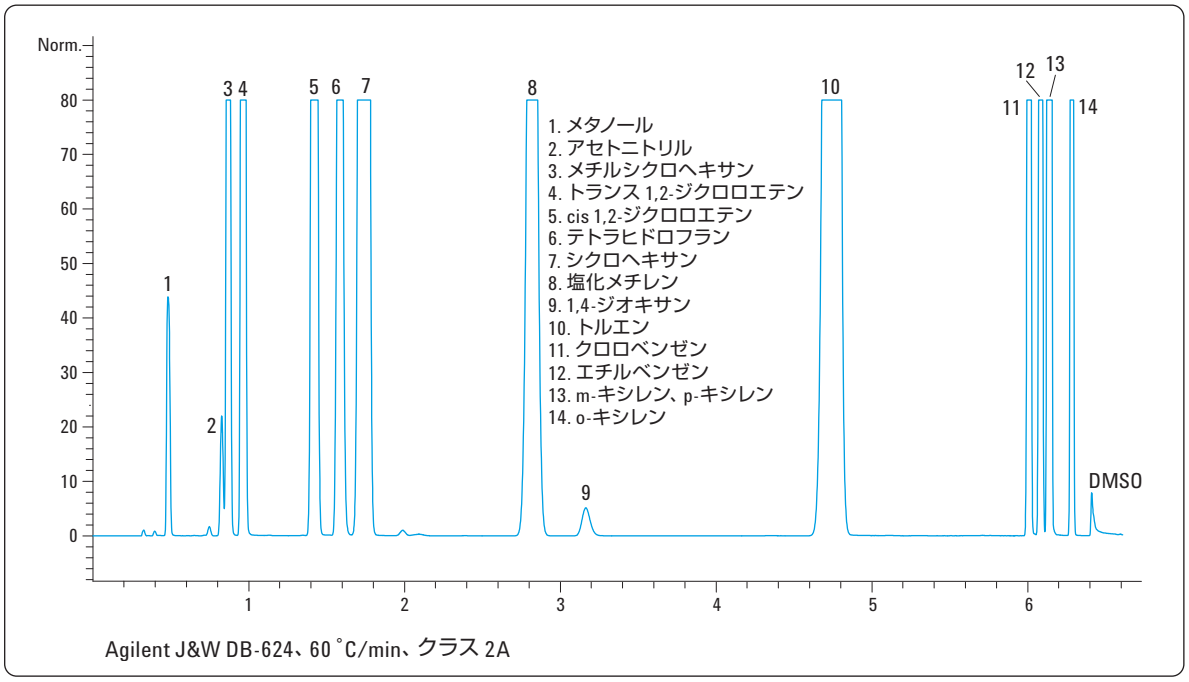

図6A. 60 °C/min の Agilent J&W DB-624 カラムにおける限界濃度でのクラス 2A 残留溶媒

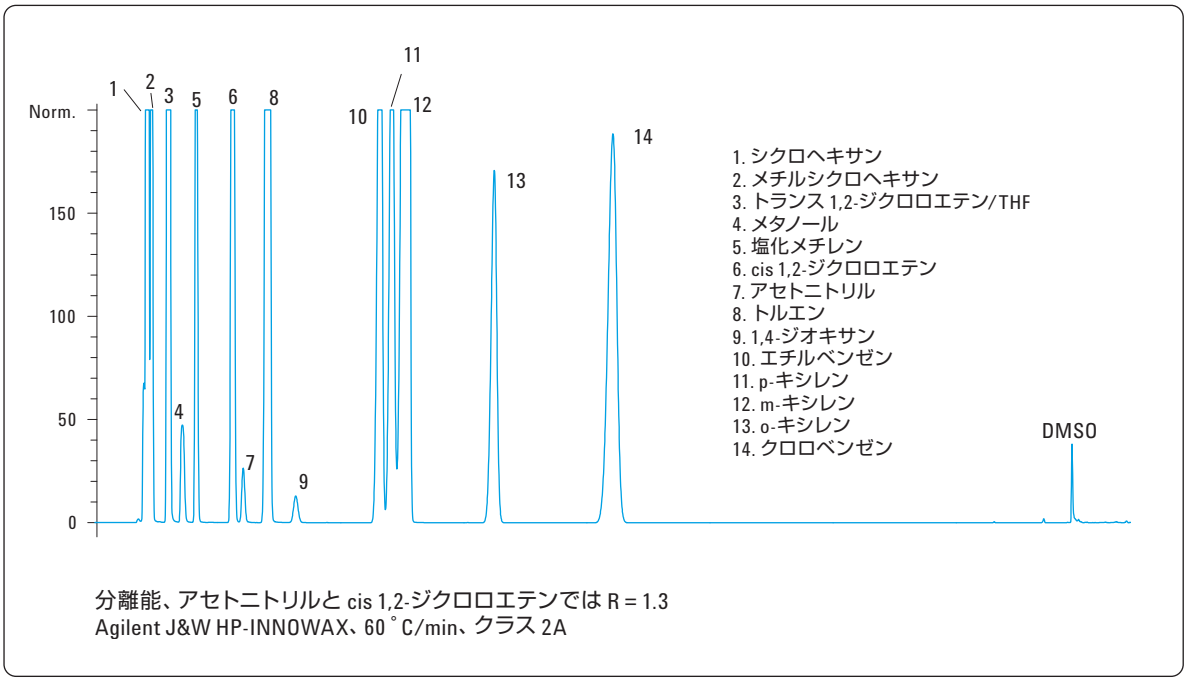

図 6B. 60 °C/minの Agilent J&W HP-INNOWax カラムにおける限界濃度でのクラス 2A 溶媒

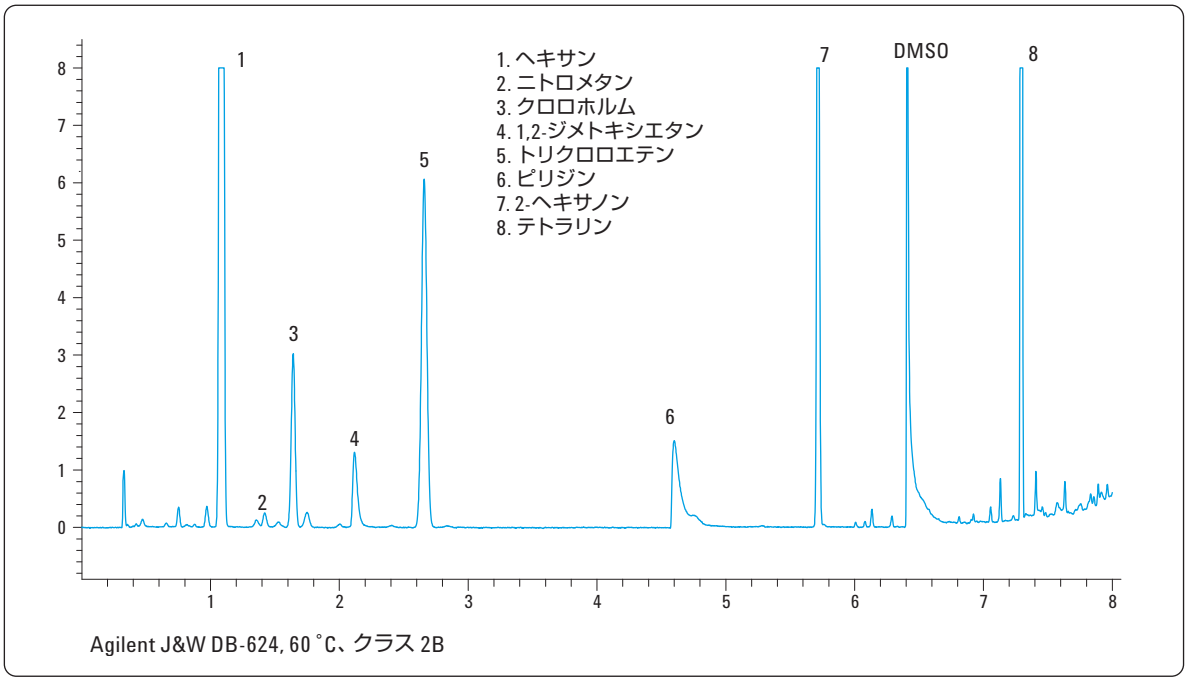

図 7A. 60 °C/min の Agilent J&W DB-624 カラムにおける限界濃度でのクラス 2B 残留溶媒

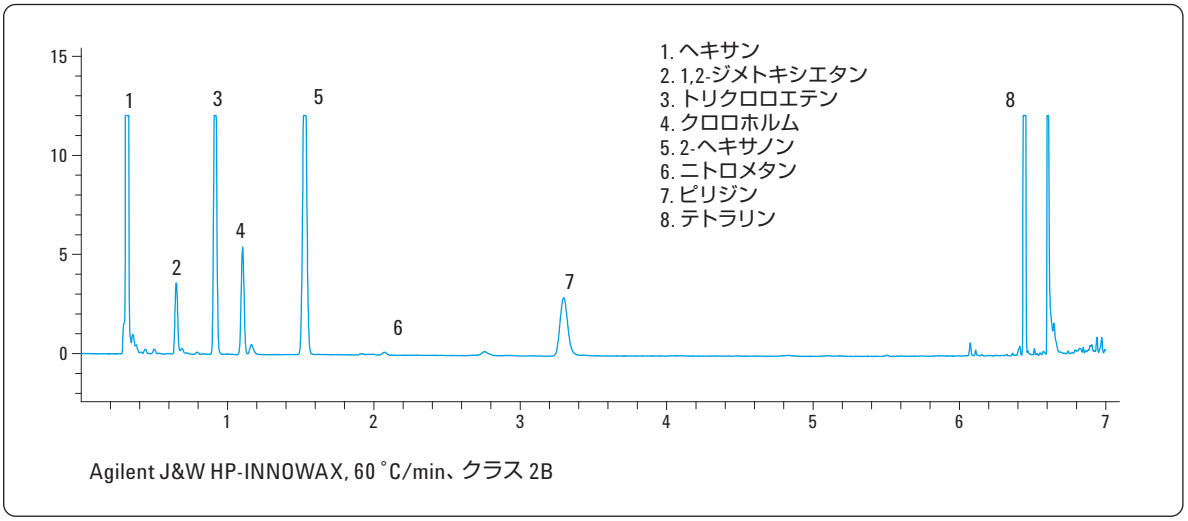

図 7B. 60 °C/min の Agilent J&W HP-INNOWax カラムにおける限界濃度でのクラス 2B 溶媒

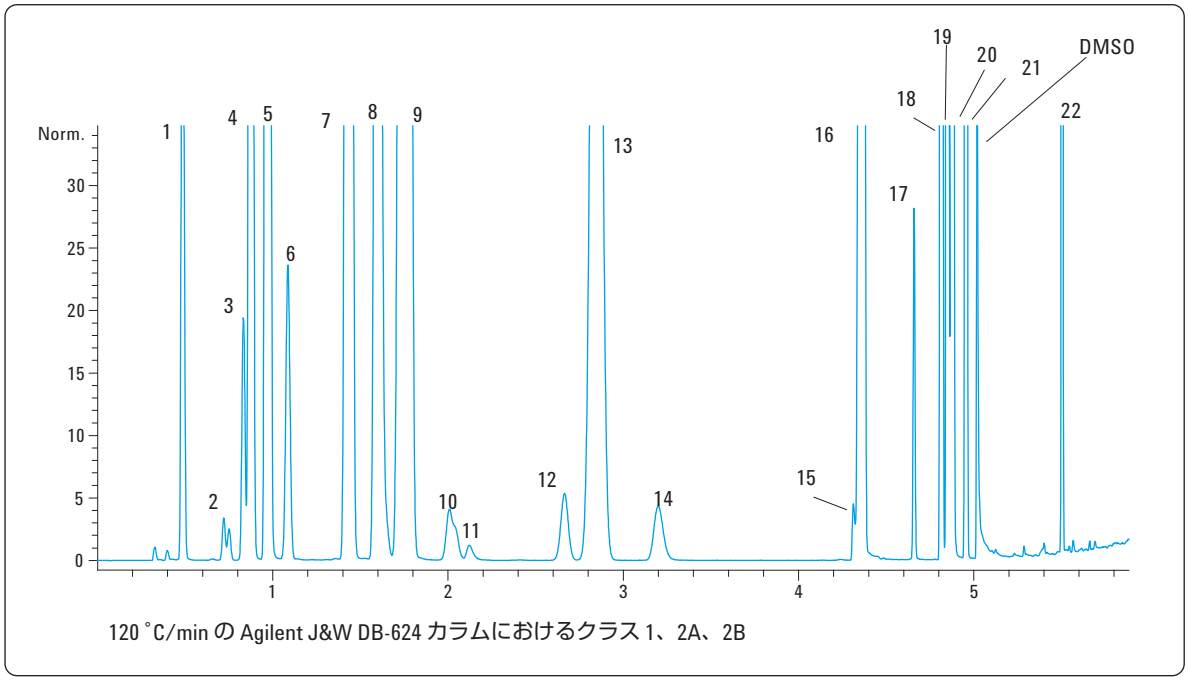

図 8. 120 °C/min の Agilent J&W DB-624 カラムにおける限界濃度でのクラス 1、2A、および 2B 溶媒。表 4 のピーク ID

表 4. 図 8 および実際のヘッドスペースバイアル濃度のピーク番号

クラス 1	濃度 (µg/mL)	クラス 2A	濃度 (µg/mL)	クラス B	濃度 (µg/mL)
2. 1,1-ジクロロエテン	66.7	1. メタノール	25.0	6. ヘキサン	0.483
9. 1,1,1-トリクロロエタン	83.3	3. アセトニトリル	3.41	7. ニトロメタン	0.083
9. 四塩化炭素	33.3	4. 塩化メチレン	5.00	8. クロロホルム	0.100
10. 1,2-ジクロロエタン	41.7	5. トランス-1,2-ジクロロエチレン	7.83	11. 1,2-ジメトキシエタン	0.167
10. ベンゼン	16.7	7. cis -1.2-ジクロロエテン	7.83	12. トリクロロエテン	0.133
		8. テトラヒドロフラン	6.00	15. ピリジン	0.333
		9. シクロヘキサン	3.23	17. 2-ヘキサノン	0.083
		13. メチルシクロヘキサン	9.83	22. テトラリン	0.167
		14. 1,4-ジオキサン	3.17		
		16. トルエン	7.42		
		18. クロロベンゼン	3.00		
		19. エチルベンゼン	3.07		
		20. m、p -キシレン	3.38		
		21. o-キシレン	1.63		

DB-624 上の共溶出

- cis-1,2-ジクロロエチレン、ニトロメタン
- THF、クロロホルム
- シクロヘキサン、CCl4、1,1,1-トリクロロエタン
- ベンゼン、1,2-ジクロロエタン

結論

残留溶媒分析で標準メソッドから LTM ベースシステムに変換すると、サイクルタイム全体を 60% 短縮できます。キャピラリフローテクノロジを採用すると、2 つのカラム液相 (Agilent J&W DB-624 および Agilent J&W HP-INNOWax カラム) 上で 1 回のヘッドスペース注入から同時に分析できます。7M x 0.25 mm の LTM カラムサイズでは、USP 467 の分離能要件を満たしつつ、スピード、使いやすさ、能力の適切な調和が保たれます。LTM テクノロジを使用するこの一般的なメソッドは、USP 手順のバリエーションが適切で、高速メソッドの最適化が望ましい新薬開発に特に魅力的です。

Chemstation メソッドは、アドオンソフトで Agilent 7890A GC/Agilent G1888A ヘッドスペースと LTM 制御を統合し、設定、操作、メソッド統合、およびコンプライアンスを容易にします。

参考文献

1. USP 32-NF 27, General Chapter USP <467> Organic Volatile Impurities, United States Pharmacopeia. Pharmacopoeia Convention Inc., Rockville, MD, 8/2009.
2. International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Q3C (R4): Impurities guideline for residual solvents, Step 4, July 1997.
3. Joseph M. Levy and Michael Kraft,"Simultaneous Dual Capillary Column Headspace GC With Flame Ionization Confirmation and Quantification According to <USP467>," Agilent Technologies publication 5989-8085EN, 2008.
4. Frank David, Roman Szucs, Jay Makwans, and Pat Sandra, "Fast Capillary GC using a Low Thermal Mass Column Oven for the Determination of Residual Solvents in Pharmaceuticals," Pfizer Analytical Research Centre, Ghent University, Krijgslann, Ghent, Belgium, J. Sep. Sce. 2006, 29, 695-698, 2006.
5. Roger L. Firor,「Agilent G1888 ネットワークヘッドスペースサンプラを用いた医薬品中の残留溶媒測定」アジレント資料番号 5989-1263JAJP, 2004.
6. Albert E. Gudat and Roger L. Firor,「残留溶媒分析におけるリテンションタイム、ピーク面積再現性および感度の向上」アジレント資料番号 5989-6079JAJP, 2007.

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2010
Printed in Japan
January 12, 2010
5990-5094JAJP

Agilent Technologies